

**ISOLASI DAN AKTIVITAS *PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA*
(*RHIZOBIUM, AZOSPIRILLUM, AZOTOBACTER, PSEUDOMONAS*)
DARI TANAH PERKEBUNAN KARET, LAMPUNG**
**[Isolation And Activity Of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (*Rhizobium*,
Azospirillum, *Azotobacter*, *Pseudomonas*) From Soil Of Rubber Plantation, Lampung]**

Sri Widawati

Research Center for Biology, Indonesian Institute of Sciences
Jl.Raya Jakarta-Bogor km 46 Cibinong Science Center
e-mail: widadomon@yahoo.com

ABSTRACT

Analysis of phosphate dissolving activity, P dissolved; PMEase and IAA production by Plant Growth Promoting Rhizobacteria group (PGPR) is a parameter to determine the effectiveness of these bacteria as biological organic fertilizer (BOF). This study was aimed to obtain PGPR (*Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*) that were potential as a BOF to reclamation on degraded plantation area. This study used a random sampling method for 11 sampling points (1999P1, 1999P2, 1999P3, 1999P4, 1999P5, 2007P, 2007P1, 2007P2, 2007P3, 2007P4, 2007P5) in the area of rubber plant roots. Isolation and counting of bacterial populations used plate count method on selective media (YEMA, Okon, Cáceres, NFB, AMA, PAB) whereas phosphate dissolving activity analysis, Dissolution Efficiency Index (DE), PMEase and IAA production following the method of Nguyen, Bray, Seshadri, Tabatabai, and Gravel. The results showed that of the 11 sampling points, 11 isolates were obtained effectively consisting of four groups of bacteria, namely: *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter* and *Pseudomonas* with the number of population: 3.3×10^5 , 80×10^5 , 20×10^5 , and 14×10^5 cfu. The results of the analysis of DE, soluble P, PMEase acid-base, and the highest IAA obtained from the bacterium isolated from the sampling point 1999P3 and 1999P1. This potential isolates will be used to the next research on reclamation of degraded land plantation

Key words: Nitrogen fixing bacteria, phosphate solubilizing bacteria.

ABSTRAK

Analisa aktivitas pelarutan fosfat, P terlarut, produksi PMEase dan IAA oleh kelompok *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) merupakan parameter untuk mengetahui efektivitas bakteri tersebut sebagai pupuk organik hayati (POH). Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan PGPR (*Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*) berpotensi sebagai POH untuk mereklamasi areal perkebunan terdegradasi. Penelitian ini menggunakan metode random sampling untuk pengambilan sampel di 11 titik sampling (1999P1, 1999P2, 1999P3, 1999P4, 1999P5, 2007P, 2007P1, 2007P2, 2007P3, 2007P4, 2007P5) di area perakaran tanaman karet. Isolasi dan penghitungan populasi bakteri digunakan metode plate count pada media selektif (YEMA, Okon, Cáceres, NFB, AMA, PAB) sedangkan analisa aktivitas pelarutan fosfat, Indeks Pelarutan Efisiensi (EP), P terlarut, produksi PMEase dan IAA mengikuti metode dari Nguyen, Bray, Seshadri, Tabatabai, dan Gravel. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 11 titik sampling, didapatkan 11 isolat efektif yang terdiri dari 4 kelompok bakteri yaitu: *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, dan *Pseudomonas* dengan jumlah populasi: $3,3 \times 10^5$; 80×10^5 ; 20×10^5 ; dan 14×10^5 cfu. Hasil analisis EP, P terlarut, PMEase asam-basa, dan IAA tertinggi diperoleh dari isolat *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, dan *Pseudomonas* yang diisolasi dari titik sampling 1999P1 dan 1999P3. Isolat potensial tersebut akan digunakan pada penelitian selanjutnya untuk reklamasi perkebunan yang terdegradasi.

Kata kunci: Bakteri penambat nitrogen, bakteri pelarut fosfat

PENDAHULUAN

Analisa aktivitas pelarutan fosfat, P terlarut, produksi PMEase dan IAA oleh kelompok *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) merupakan parameter untuk mengetahui efektivitas bakteri tersebut sebagai pupuk organik hayati (POH). Bakteri PGPR berpotensi untuk mereklamasi areal perkebunan terdegradasi akibat penggunaan pupuk yang kurang bijaksana.

Pemberian pupuk kimia khususnya *Triple Super Phosphate* (TSP) yang terus menerus pada area perkebunan menyebabkan residu pupuk kimia

pada tanah perkebunan, karena fosfat tidak mudah tercuci (Supardi, 1980). Sehingga terjadi fiksasi fosfat yang semakin lama semakin tinggi dalam tanah dan mengakibatkan polusi agroekologi kandungan pupuk fosfat dalam tanah (Supardi, 1980). Akibatnya penyerapan fosfat yang hanya tersedia sekitar 15% - 26% akan membuat pertumbuhan tanaman tidak maksimal (kerdil), karena difisiensi fosfor. Efek samping lainnya adalah tanah menjadi jenuh dan kurang subur (terdegradasi) sehingga membutuhkan reklamasi. Salah satu alternatif dalam pengembalian kesuburan

tanah di area perkebunan adalah dengan menggunakan teknik pupuk organik hayati (POH). Pupuk tersebut berupa inokulan yang memanfaatkan bakteri *PGPR* (*plant growth promoting rhizobacteria*) *indigenous*. Bakteri tersebut bersifat efektif dan agresif menginfeksi akar sehingga akar akan terhindar dari infeksi bakteri lain yang merugikan tanaman (hama penyakit) serta dapat memperbaiki aerasi tanah dan tanah menjadi subur. Isolat bakteri *PGPR* yang akan digunakan sebagai pupuk hayati biasanya diisolasi dari tanah (rizosfir) dari area yang akan disuburkan. Rao (1994) mengemukakan, bahwa untuk memperbaiki difisiensi fosfor pada tanaman adalah dengan menginokulasi biji / tanah dengan mikroorganisme pelarut fosfat bersama - sama dengan pupuk fosfat. Apabila teknologi tersebut dapat mereklamasi lahan terdegradasi dan meningkatkan ketersediaan fosfat, tentunya akan menjadi terobosan yang sangat berarti dalam meningkatkan pertumbuhan dan produksi perkebunan dan sekaligus merupakan solusi dalam penghematan pemakaian pupuk fosfat kimiawi. Salah satu keuntungan dalam memanfaatkan bakteri *PGPR* adalah terhindar dari efek pencemaran lingkungan, yaitu dengan cara memberikan pupuk inokulan yang mengandung bakteri *PGPR* ke dalam tanah sebelum tanam dan sebulan setelah tanam.

Bakteri *PGPR* meliputi beberapa bakteri seperti *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter* (Penambat nitrogen) dan bakteri pelarut fosfat seperti *Pseudomonas*. Bakteri ini dapat hidup bebas dalam bintil akar, rizosfir, permukaan akar tanaman dan dalam tanah (Venkateswarlu dan Rao, 1983). Menurut Widawati dan Muharam (2012), aktivitas bakteri *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter* adalah dapat menyediakan unsur N dan beberapa mampu menyediakan unsur P bagi tanaman serta dapat memproduksi hormon tumbuh seperti IAA (Indol Asam Asetat). Bakteri tersebut akan menambat N dari udara dan mengubahnya menjadi NH_3 dengan menggunakan nitrogenase, kemudian NH_3 diubah menjadi glutamin atau alanin

(Waters *et al.*, 1998), sehingga bisa diserap oleh tanaman dalam bentuk NO_3^- dan NH_4^+ . Bakteri penambat nitrogen dan juga sebagai pelarut fosfat efektif, populasinya dalam tanah hanya kira-kira antara 0,1 – 0,5 % dari total mikroorganisme yang ada (Kucey, 1983).

Pelarutan fosfat oleh aktivitas bakteri pelarut fosfat terjadi pada saat perubahan kelarutan senyawa fosfat organik yang menghasilkan asam-asam organik (asam sitrat, glutamat, dan suksinat) dan bereaksi dengan Al^{3+} , Fe^{3+} , Ca^{2+} atau Mg^{2+} membentuk kompleks stabil serta membebaskan ion fosfat terikat menjadi tersedia bagi tanaman. Bakteri pelarut fosfat menghasilkan enzim fitase dan enzim fosfatase penghasil asam – asam organik yang dapat memineralisasi fosfat organik dalam tanah (Alexander, 1977). Enzim fosfatase atau fosfomonoesterase (PMEase) dipengaruhi oleh adanya reaksi asam dan basa dalam tanah serta akan mempengaruhi transformasi fosfat yang disintesis oleh BPF dalam tanah. Enzim-enzim tersebut juga bertanggung jawab pada proses hidrolisis fosfat organik menjadi fosfat anorganik (H_2PO_4^- , HPO_4^{2-}) yang tersedia bagi tanaman (Kustiyaningsih, 2003). Mikroba tersebut juga memproduksi asam amino, vitamin dan *growth promoting substance* seperti IAA dan asam giberelin yang dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman (Ponmugaran, 2006).

Hormon IAA (*Indol-3-acetic acid*) adalah zat auksin endogen yang terdapat pada tanaman (Salisbury dan Ross, 1995). IAA termasuk fitohormon golongan auksin alami (senyawa organik bukan nutrisi) yang aktif dalam jumlah kecil dan dapat meningkatkan sintesis DNA dan RNA, serta meningkatkan pertukaran proton (Aslamsyah, 2002).

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bakteri *PGPR* (*Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*) yang berpotensi dan mempunyai efektivitas baik sebagai POH untuk mereklamasi area perkebunan karet yang terdegradasi. Area tanaman karet dipilih sebagai

objek penelitian karena masih jarang informasi tentang keberadaan mikroba di daerah perakaran karet dan banyaknya tanah perkebunan yang terdegradasi akibat pupuk kimia.

BAHAN DAN CARA KERJA

Sampel tanah diambil dari rhizosfir tanaman karet (11 titik sampling) dari perkebunan karet milik PTPN VII Bandar Lampung yang berlokasi di unit usaha Kedaton, Tanjung Bintang, Kabupaten Lampung Selatan. Tanah diayak dan dikering anginkan kemudian dibawa ke laboratorium Mikrobiologi, P2B, LIPI. Sampel tanah diisolasi dengan kode: 1999P1-1999P5 dan 2007P, 2007P1 – 2007P5. Isolasi dan penghitungan populasi bakteri *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, dan *Pseudomonas* dilakukan dengan menggunakan metode *plate count* (Vincent, 1982). Isolasi bakteri tersebut menggunakan medium selektif, yaitu: Medium YE-MA/Agar manitol ekstrak khamir untuk *Rhizobium* (Rao, 1994), medium Cáceres (Cáceres, 1982) dan NFb semi padat tanpa unsur N (Baldani *et al.*, 1980) untuk *Azospirillum*, medium Agar manitol Ashby untuk *Azotobacter* (Rao, 1994), dan medium Pikovskaya untuk bakteri pelarut fosfat (Gaur, 1981) yang diteruskan ke medium *Pseudomonas agar base* untuk mendapatkan bakteri *Pseudomonas*. Analisa kualitatif kemampuan bakteri *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter* dan Bakteri pelarut Fosfat (BPF) seperti *Pseudomonas* dalam aktivitas pelarutan P pada medium pikovskaya padat dan Indeks Efisiensi Pelarutan fosfat (EP = Diameter koloni bakteri/ diameter zona bening) pada $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ sebagai sumber fosfat yang terdapat dalam media Pikovskaya padat dan cair dilakukan dengan metode Nguyen *et al.* (1992) dan Seshadri *et al.* (2002). Bakteri Penambat Nitrogen (BPN) dan Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) yang mampu melarutkan fosfat terikat akan ditandai dengan adanya zona bening (*holozone*) disekitar pertumbuhan koloni.

Analisa kemampuan kuantitatif BPN dan BPF dalam aktivitas pelarutan fosfat terikat pada media Pikovskaya padat menggunakan metode Bray (Buckman *et al.*, 1982) dan cair menggunakan metode Allen (1974) serta aktivitas enzim fosfomonoesterase (PME-ase) asam dan basa dan kondisi pH selama inkubasi 7 hari pada kultur murni (pH asal = 7) menggunakan metode Tabatabai (1994). Kultur dipanen dan disentrifugasi 10 menit, lalu fosfat yang dapat larut diukur menggunakan metode Anderson (1982). Analisa produksi IAA dari bakteri *Rhizobium*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, dan bakteri pelarut fosfat (*Pseudomonas*) menggunakan metode Gravel *et al.* (2007) dengan menggunakan L- triptophan 200 mg/L sebagai prekursor fisiologis biosintesis auksin. Analisis statistik (data) menggunakan SPSS soft ware yang diuji dengan metode Duncan Multiple Range Test pada taraf uji 5 % yang kemudian ditransfer ke grafik.

HASIL

Hasil penghitungan populasi BPN (bakteri penambat nitrogen) dan BPF (bakteri pelarut fosfat), menunjukkan jumlah populasi bakteri dibawah atau sama dengan 10^5 – 10^6 CFU/g. Jumlah yang bervariasi terlihat pada populasi bakteri *Rhizobium* yang diisolasi dari titik sampling berkode 1999P1, 1999P4 dan 2007P1 yaitu 3,30 dan 2,55 x 10^5 CFU/g dan pada kode 2007P3 yaitu 0,20 x 10^5 CFU/g. Populasi bakteri *Azospirillum* yang diisolasi dari titik sampling berkode 1999P1, 1999P5, 2007P1 = 80,00 x 10^5 CFU/g) dan 2007P2 = 0,40 x 10^5 CFU/g. Populasi bakteri *Azotobacter* yang diisolasi dari titik sampling berkode 1999P, 2007P, 2007P1 dan 2007P4 = 20,00; 13,00; 10,00 x 10^5 CFU/g) dan 1999P2 dan 1999P3 = 0,30 x 10^5 CFU/g. Populasi bakteri *Pseudomonas* yang diisolasi dari titik sampling berkode 1999P1, 1999P5 = 14,00 dan 13,00 x 10^5 CFU/g, dan 1999P3, 2007P4 = 0,50; 0,30 x 10^5 CFU/g (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil isolasi dan penghitungan populasi bakteri (*Results of isolation and enumeration of bacterial populations*).

No.	Kode sampel (Sample code)	Jumlah populasi bakteri (Number of bacterial population) CFU/gram (10^5)			
		<i>Rhizobium</i>	<i>Azospirillum</i>	<i>Azotobacter</i>	<i>Pseudomonas</i>
1.	1999 P1	3,30	80,00	20,00	14,00
2.	1999 P2	1,05	1,00	0,30	6,30
3.	1999 P3	0,55	3,00	0,30	0,30
4.	1999 P4	2,55	1,00	2,00	9,00
5.	1999 P5	2,10	80,00	7,00	13,00
6.	2007 P	1,35	8,00	13,00	9,60
7.	2007 P1	2,55	80,00	10,00	9,70
8.	2007 P2	0,40	0,40	2,00	8,50
9.	2007 P3	0,20	12,00	6,50	9,00
10.	2007 P4	1,05	40,01	0,00	0,50
11.	2007 P5	0,60	6,00	1,30	1,90

Tabel 2. Hasil pengujian kualitatif kemampuan bakteri melarutkan P dan Indeks Efisiensi Pelarutan (EP) fosfat (*Results of the qualitative test of bacteria's ability to dissolve P and Dissolution Efficiency Index (EP) phosphate*).

No.	Kode sampel Tanah (Code of soil sampel)	Reaksi dan kemampuan bakteri yang diuji (Reaction and ability of tested bacteria kemampuan bakteri)							
		<i>Rhizobium</i>		<i>Azospirillum</i>		<i>Azotobacter</i>		<i>Pseudomonas</i>	
		Reaksi	EP	Reaksi	EP	Reaksi	EP	Reaksi	EP
1.	1999 P1	+++	140	+++	120	+++	120	+++	160
2.	1999 P2	++	65	++	65	++	65	+++	80
3.	1999 P3	++	70	++	70	++	60	++	70
4.	1999 P4	++	65	++	70	++	60	+++	80
5.	1999 P5	+++	100	+++	100	+++	100	+++	110
6.	2007 P	+++	85	+++	85	+++	80	+++	100
7.	2007 P1	+++	85	+++	80	+++	80	+++	90
8.	2007 P2	++	60	+	55	+	50	++	60
9.	2007 P3	++	60	+	55	+	55	++	65
10.	2007 P4	++	60	+	55	++	60	++	65
11.	2007 P5	+	50	+	50	+	50	+	55

Keterangan : +++ = Reaksi pelarutan baik; ++ = Reaksi pelarutan sedang; + = Reaksi pelarutan rendah

Note: +++ = Good; ++ = Medium; + = Low

Kemampuan bakteri *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter* dan *Pseudomonas* melarutkan fosfat pada medium padat ditunjukkan dengan Nilai Indeks Efisiensi Pelarutan/EP (Tabel 2). Sebelas isolat dari masing - masing bakteri tunggal (*Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter* dan *Pseudomonas*) yang diisolasi dari masing – masing titik sampling 1999P1, 1999P5, 2007P, dan 2007P1 mempunyai nilai Indeks EP baik (+++) dibanding isolat yang lain. Nilai Efisiensi Pelarutan berturut-turut adalah : 140, 100, 85, dan 85 (*Rhizobium*);

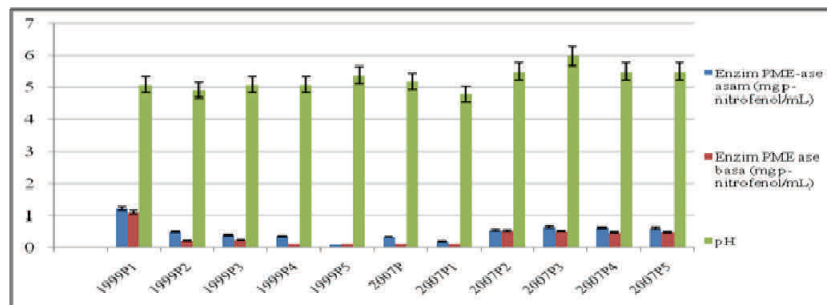
120, 100, 85, dan 80 (*Azospirillum*); 120, 100, 80, dan 80 (*Azotobacter*); seras 160, 110, 100, dan 90 (*Pseudomonas*) dan reaksi pelarutan rendah (+) adalah 50, 50, 50, dan 55 dihasilkan oleh *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, dan *Pseudomonas* yang diisolasi dari titik sampling kode 2007P5. Nilai Indeks Efisiensi dengan reaksi pelarutan rendah juga diperoleh oleh bakteri *Azospirillum* yang diisolasi dari titik sampling kode 2007P2- 2007P4 serta *Azotobacter* yang diisolasi dari titik sampling kode 2007P2 dan 2007P3.

Bakteri yang diisolasi dari titik sampling 1999P1 mampu menghasilkan nilai PME-ase asam dan basa lebih tinggi dibandingkan bakteri dari titik sampling lainnya, yaitu: 1,23 dan 1,10 mg p-nitrofenol/mL dengan pH 5,1 dan hasil terendah 0,10 dan 0,12 mg p-nitrofenol/mL dengan pH 5,4 diproduksi bakteri dari titik sampling 1999P5. Hasil PME-ase basa terendah lainnya dihasilkan oleh bakteri *Rhizobium* yang diisolasi dari titik sampling 1999P4, 2007P, dan 2007P1 dengan pH 5,1; 5,2; dan 4,8, yaitu: 0,12 mg p-nitrofenol/mL (Gambar 1).

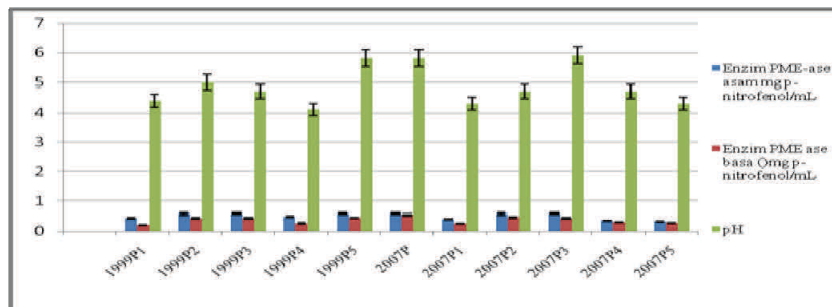
Kemampuan bakteri *Azospirillum* dalam melarutkan P secara kuantitatif menghasilkan nilai PME-ase asam dan basa tertinggi serta terendah bila dibandingkan dengan lainnya setelah inkubasi 7 hari pada pH 7. Hasil PME-ase asam tertinggi 0,58 dan 0,57 mg p-nitrofenol/mL dihasilkan oleh *Azospirillum* yang diisolasi dari titik sampling kode

1999P3 (pH=4,7), 1999P5 (pH=5,8) , 2007P (pH=5,8), 2007P3 (pH=5,9), 2007P2 (pH=4,7) dan terendah yaitu : 0,35 dan 0,33 mg p-nitrofenol/mL dihasilkan oleh bakteri *Azospirillum* yang diisolasi dari titik sampling 2007P4 dan 2007P5 (pH=4,7 dan 4,3). Enzim fosfatase basa tertinggi dihasilkan oleh *Azospirillum* dari 2007P (0,54mg p-nitrofenol/mL dengan pH 5,8) dan terendah 1999P1(0,22 mg p-nitrofenol/mL dengan pH 4,4) (Gambar 2).

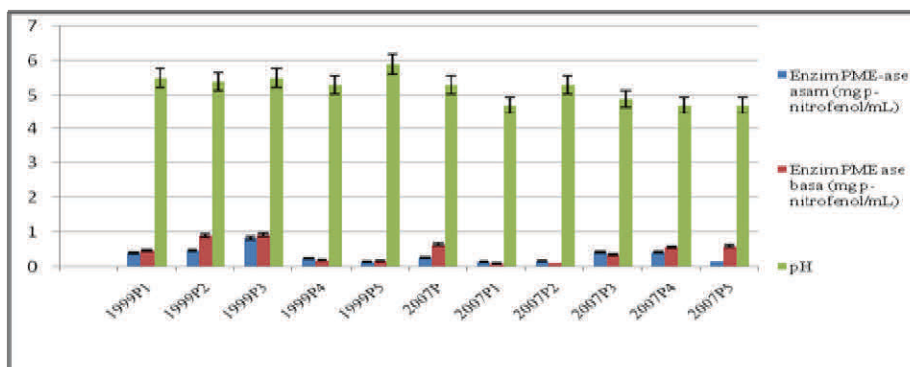
Kemampuan bakteri *Azotobacter* dalam melarutkan P secara kuantitatif setelah inkubasi 7 hari menghasilkan PME-ase asam dan basa. Nilai tertinggi 0,83 dan 0,93 mg p-nitrofenol/mL dihasilkan oleh *Azotobacter* yang diisolasi dari titik sampling kode 1999P3 (pH = 5,5) serta terendah yaitu : 0,15; 0,17 dan 0,10; 0,11 mg p-nitrofenol/mL dihasilkan oleh bakteri *Azotobacter* yang diisolasi dari titik sampling 2007P1 dan 2007P2 (pH = 4,7 dan 4,3).



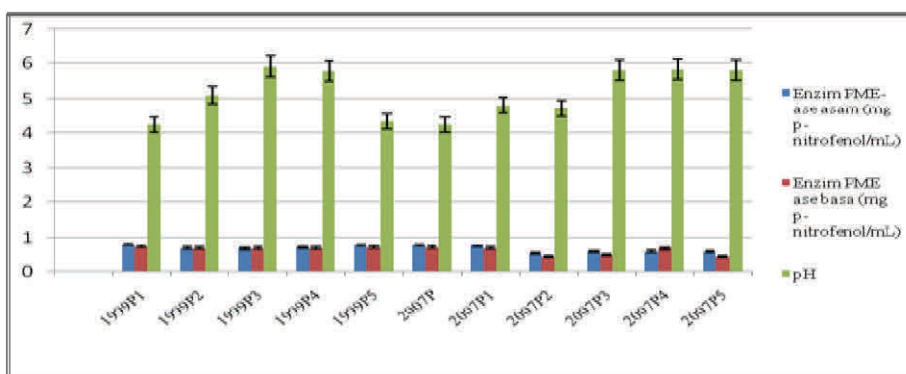
Gambar 1. Grafik analisis kuantitatif aktivitas enzim PMEase-asam dan basa oleh *Rhizobium*, dan kondisi pH selama 7 hari inkubasi dalam kultur murni (*Graph of quantitative analysis of enzyme activity PMEase-acids and bases by Rhizobium, and pH conditions during the 7 days of incubation in pure culture*)



Gambar 2. Grafik analisis kuantitatif aktivitas enzim PMEase-asam dan basa oleh *Azospirillum*, dan kondisi pH selama 7 hari inkubasi dalam kultur murni (*Graph of quantitative analysis of enzyme activity PMEase-acids and bases by Azospirillum, and pH conditions during the 7 days of incubation in pure culture*)



Gambar 3. Grafik analisis kuantitatif aktivitas enzim PMEase-asam dan basa oleh *Azotobacter*, dan kondisi pH selama 7 hari inkubasi dalam kultur murni (*Graph of quantitative analysis of enzyme activity PMEase-acids and bases by Azotobacter, and pH conditions during the 7 days of incubation in pure culture*)



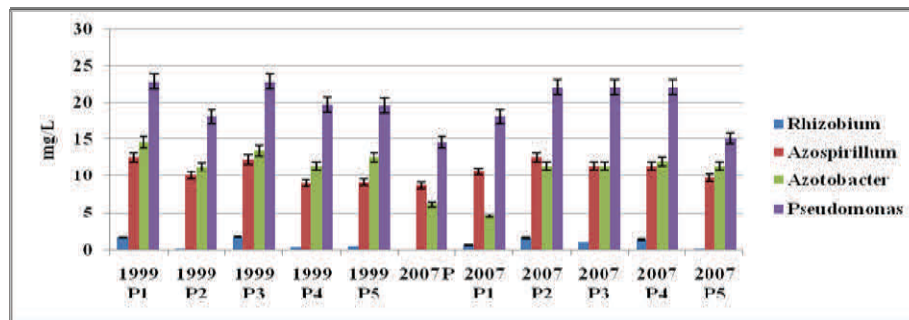
Gambar 4. Grafik analisis kuantitatif aktivitas enzim PMEase-asam dan basa oleh *Pseudomonas*, dan kondisi pH selama 7 hari inkubasi dalam kultur murni (*Graph of quantitative analysis of enzyme activity PMEase-acids and bases by Pseudomonas, and pH conditions during the 7 days of incubation in pure culture*)

Kemampuan bakteri *Pseudomonas* dalam melarutkan P secara kualitatif menghasilkan nilai PMEase-asam dan basa tertinggi serta terendah setelah inkubasi 7 hari pada pH 7. Nilai PMEase-asam dan basa tertinggi 0,79 dan 0,72 mg p-nitrofenol/mL dihasilkan oleh *Pseudomonas* yang diisolasi dari titik sampling kode 1999P1 (pH=4,22) serta terendah yaitu : 0,57 dan 0,42 mg p-nitrofenol/mL dihasilkan oleh bakteri *Pseudomonas* yang diisolasi dari titik sampling 2007P5 (pH = 5,8) (Gambar 4).

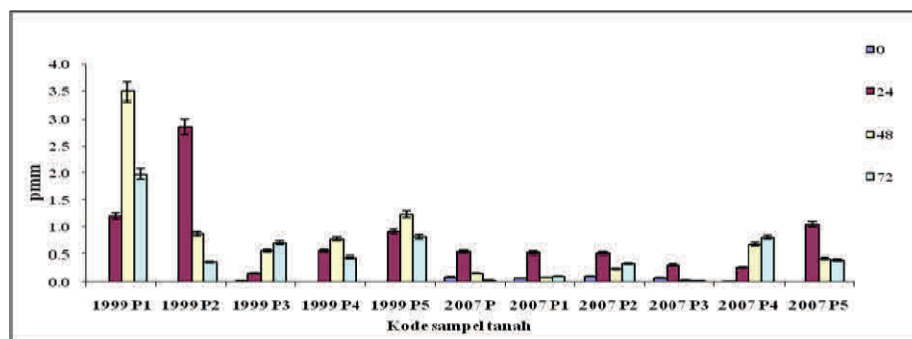
Kemampuan bakteri *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, dan *Pseudomonas* dalam melarutkan P secara kuantitatif setelah inkubasi 7 hari pada pH 7, menghasilkan nilai P terlarut tertinggi dan terendah. Hasil P terlarut tertinggi (22,8851 m/L) pada semua

titik sampling diproduksi oleh bakteri *Pseudomonas* yang diisolasi dari titik sampling 199P1 dan 199P3, sedangkan terendah (0,0689) dihasilkan oleh bakteri *Rhizobium* yang diisolasi dari titik sampling 2007 P. Bakteri *Azospirillum* dan *Azotobacter* menghasilkan P tersedia dibawah bakteri *Pseudomonas* tapi diatas *Rhizobium*.

Pencapaian produksi IAA oleh bakteri *Rhizobium* mencapai nilai maksimum pada waktu 24 jam yang diisolasi dari titik sampling kode 1999P2, 2007P1, 2007P2, 2007P3, dan 2007P5; pada waktu 48 jam yang diisolasi dari titik sampling kode 1999P1, 1999P4, 1999P5, 2007P; serta pada waktu 72 jam dan masih terus naik yang diisolasi dari titik sampling kode 1999P3 dan



Gambar 5. Grafik analisis P terlarut oleh *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, dan *Pseudomonas* selama inkubasi 7 hari (*Graph of analysis of soluble P by Rhizobium, Azospirillum, Azotobacter and Pseudomonas during incubation 7 days*).



Gambar 6. Grafik analisis hasil produksi IAA oleh *Rhizobium* dari 0 jam -72 jam (*Graph of yield analysis of IAA production by Rhizobium from 0 hours - 72 hours*)

2007P4. Hasil tertinggi ditunjukkan oleh bakteri *Rhizobium* yang diisolasi dari titik sampling kode 2007P2 (0 jam=0,1017 ppm), 1999P2 (24 jam=2,8553 ppm), 1999P1 (48 jam=3,4946 ppm), 1999P1 (72 jam=1,9785 ppm) (Gambar 6).

Produksi IAA oleh bakteri *Azospirillum* mencapai hasil maksimum pada 24 jam yang diisolasi dari titik sampling kode 1999P2, 1999P3, 1999P5, 2007P, 2007P1, 2007P2, dan 2007P4; pada 48 jam yang diisolasi dari titik sampling kode 1999P1, 1999P4, 1999P5, 2007P; serta pada 72 jam dan masih terus naik yang diisolasi dari titik sampling kode 1999P1 dan 2007P4. Hasil tertinggi ditunjukkan oleh bakteri *Azospirillum* yang diisolasi dari titik sampling kode 1999P1 (0 jam = 0,0429 ppm), 2007P3 (24 jam = 0,5767 ppm), 2007P3 (48 jam = 0,9660 ppm), 2007P3 (72 jam = 1,0412 ppm) (Gambar 7).

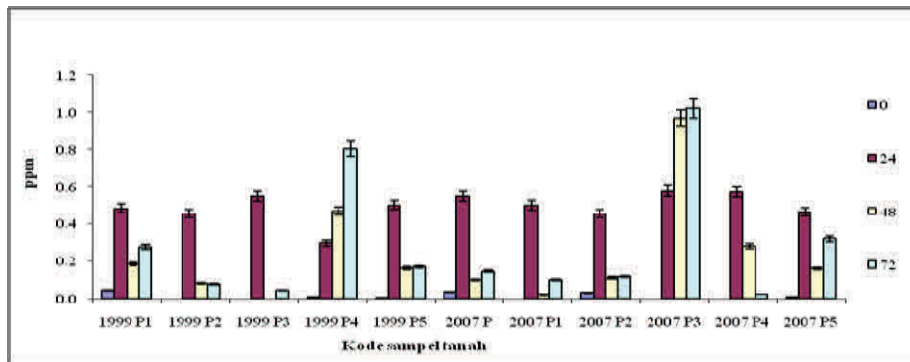
Pencapaian produksi IAA tertinggi oleh

bakteri *Azotobacter* maksimum pada 24 jam yang diisolasi dari titik sampling kode 1999P2; pada 48 jam yang diisolasi dari titik sampling kode 1999P3, 1999P4, 1999P5, 2007P1, 2007P2, 2007P3, 2007P5; serta pada 72 jam dan masih terus naik yang diisolasi dari titik sampling kode 1999P1 dan 2007P, 2007P4 (Gambar 8). Hasil tertinggi ditunjukkan oleh bakteri *Azotobacter* yang diisolasi dari titik sampling kode 2007P5 (0 jam = 0,0517 ppm), 2007P4 (24 jam = 0,6892 ppm), 2007P4 (48 jam = 1,2160 ppm), 2007P dan 2007P1 (72 jam = 1,4392 dan 1,3964 ppm) (Gambar 8).

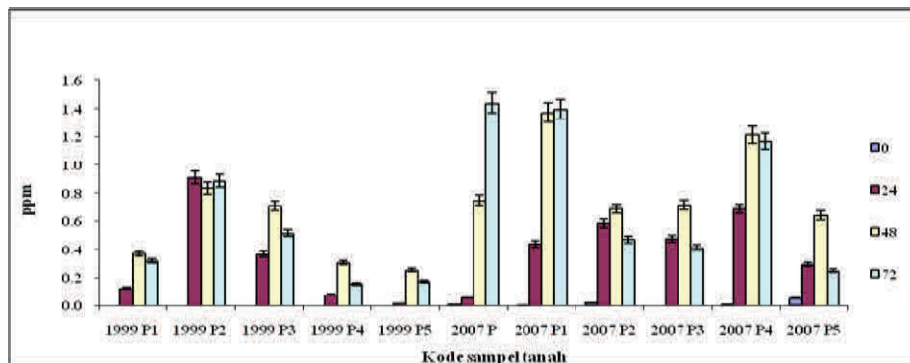
Produksi IAA yang dihasilkan oleh bakteri *Pseudomonas* mencapai maksimum pada analisa ke 24 jam dihasilkan oleh bakteri yang diisolasi dari titik sampling kode 1999P3, 1999P4, 2007P, 2007P3, 2007P4, pada analisa ke 48 jam dihasilkan oleh bakteri yang diisolasi dari titik sampling kode 1999P5, 2007P. Nilai IAA maksimum setelah 72

jam diperoleh oleh bakteri yang diisolasi dari titik sampling kode 2007P2, dan 2007P5. Sedangkan untuk kode 1999P1 dan 1999P2 sudah mencapai maksimum pada 24 jam dan turun di 48 jam, tapi naik lagi di 72 jam. Hasil tertinggi ditunjukkan oleh

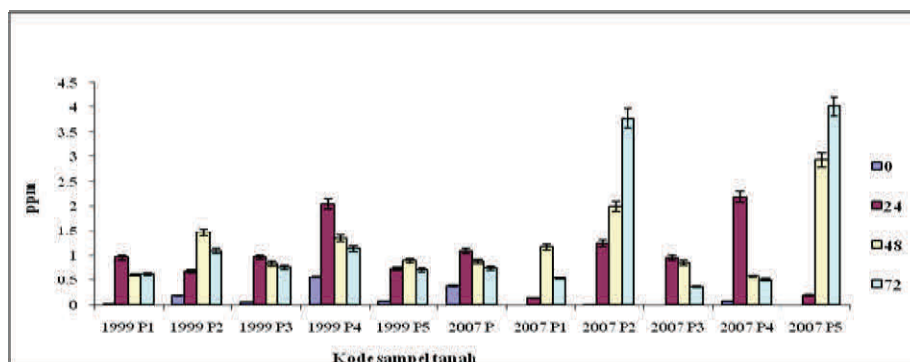
bakteri *Pseudomonas* yang diisolasi dari titik sampling kode 1999P4 (0 jam = 0,5607 ppm), 2007P4 (24 jam = 2,175 ppm), 2007P5 (48 jam = 2,925 ppm), 2007P5 (72 jam = 4,0178 ppm) (Gambar 9).



Gambar 7. Grafik analisis hasil produksi IAA oleh *Azospirillum* dari 0jam -72 jam (Graph of yield analysis of IAA production by *Azospirillum* from 0 hours - 72 hours)



Gambar 8. Grafik analisis hasil produksi IAA oleh *Azotobacter* dari 0jam -72 jam (Graph of yield analysis of IAA production by *Azotobacter* from 0 hours - 72 hours)



Gambar 9. Grafik analisis hasil produksi IAA oleh *Pseudomonas* dari 0jam -72 jam (Graph of yield analysis of IAA production by *Pseudomonas* from 0 hours - 72 hours)

PEMBAHASAN

Jumlah populasi bakteri *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, dan BPF kurang dari 10^7 . Keadaan ini menandakan bahwa tanah tersebut kurang subur, karena menurut Obaton (1977), tanah subur harus mengandung jumlah mikroba kurang lebih atau sama dengan 10^7 . Populasi bakteri di setiap ekosistem jumlahnya berbeda (Alvaro *et al.*, 2006), karena bakteri dapat hidup bebas pada ekosistem apapun seperti ekosistem kering (tanah) hingga ekosistem berair (pantai pasang surut, lepas pantai, pesisir, laut) serta daerah mangrove (Seshadri *et al.*, 2002). Banyaknya populasi bakteri dalam tanah khususnya bakteri penambat nitrogen dan pelarut fosfat yang dapat melarutkan fosfat terikat, tidak dipastikan dapat menyediakan P terlarut dalam jumlah banyak. Seperti halnya dalam penelitian ini, hasil analisa P tersedia dan PMEase dari efektivitas bakteri pelarut fosfat sangat beragam. Aktivitas bakteri melarutkan P terikat pada medium padat (nilai Indeks Efisiensi Pelarutan/EP) berbeda dengan aktivitas melarutkan P pada medium cair. Pelarutan P terikat oleh bakteri pada medium Pikovskaya padat diindikasikan dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni bakteri. Besar kecilnya zona bening tidak menentukan tinggi rendahnya kemampuan bakteri melarutkan fosfat terikat. Pelarutan P terikat oleh bakteri pada medium pikovskaya cair dipengaruhi oleh aerasi dan lamanya waktu inkubasi (Lestari *et al.*, 2011), sedangkan di medium padat inkubasi tidak selalu menambah besarnya zona bening. Tinggi rendahnya P terlarut pada media cair dan padat hasil penelitian ini tidak sama nilainya. Hasil yang sama diperoleh oleh Fankem *et al.*, (2006) dalam penelitiannya dan hal ini disebabkan oleh perbedaan aktivitas bakteri dalam melarutkan P pada media padat dan media cair. Sebab lain karena efektivitas bakteri pelarut fosfat dalam melarutkan unsur P terikat berkaitan erat dengan cara beradaptasi dari bakteri tersebut pada lingkungannya.

Hasil analisa P terlarut serta aktivitas enzim PMEase asam dan basa meningkat selama inkubasi.

Peningkatan aktivitas terjadi karena adanya proses induksi pada saat jumlah P terbatas dalam media Pikovskaya dan pada saat bakteri tumbuh sehingga membutuhkan P yang tinggi (Savin *et al.*, 2000 cit Ahmad, 2014). Selama pertumbuhannya dalam media pikovskaya, bakteri pelarut fosfat secara genetik mempunyai kemampuan yang berbeda-beda dalam menghasilkan jumlah dan jenis dari asam-asam organik. Menurut Tatiek (1991), jumlah dan jenis asam – asam organik berperan dalam tinggi rendahnya pelarutan P oleh bakteri pelarut fosfat (*Rhizobium*, *Azospirillum*, *azotobacter*, dan *Pseudomonas* (Gambar 1,2,3,4,5). Hasil analisa PMEase (PME-ase asam = 1,179; basa = 1,120 mg p-nitrofenol/mL) pada sampel tanah kode 1999P1 lebih tinggi dibandingkan sampel lainnya. Kondisi seperti ini menunjukkan bakteri yang terkandung didalamnya lebih mampu melarutkan P terikat/anorganik dan organofosfor menjadi tersedia bagi tanaman. Dampaknya terlihat pada hasil analisa P terlarut. Fosfat terlarut paling tinggi, yaitu 22.8851 mg/L dihasilkan oleh bakteri *Pseudomonas* dari 1999P1 dan 1999P3. Nilai P terlarut tinggi lainnya dihasilkan oleh *Azotobacter* (12,5436 dan 12,2919 mg/L) dan *Azospirillum* (14,5830 dan 13,4219 mg/L) yang diisolasi dari titik sampling 1999 P1 dan 1999 P3 dan nilai P terlarut terendah di produksi oleh bakteri *Rhizobium* (1,6595 dan 1,7353 mg/L). Nilai P terlarut yang dihasilkan oleh bakteri *Pseudomonas* dan *Azotobacter* pada penelitian ini, ternyata lebih tinggi jika dibandingkan dengan nilai P terlarut (12,387 mg/l) pada hari pertama oleh bakteri yang diisolasi dari tanah perakaran perkebunan kelapa sawit pada penelitian Lestari *et al.*, (2011). Kenaikan PME-ase asam dan basa diikuti oleh penurunan pH (pH asal = 7), yaitu: 5,81; 5,8; 5,5; 4,22. Penurunan pH terjadi karena absorpsi glukosa pada aktivitas bakteri pelarut fosfat yang membebaskan asam-asam organik meningkat. Proses ini akan mengakibatkan terjadinya pelarutan Ca-fosfat dan akan membentuk khelat dengan kation AL, Fe, dan Ca yang mengikat P, sehingga P akan tersedia dalam bentuk ion $H_2PO_4^-$ yang dapat

diserap oleh tanaman (Kucey, 1983). Naik turunnya pH dalam media pikovskaya yang diinokulasi bakteri pelarut fosfat akan berpengaruh dalam tinggi rendahnya nilai P terlarut. Hal ini terjadi karena adanya pembebasan proton yang dapat menurunkan pH (Sudiana, 2002). Selain faktor kemasaman tanah (pH), ternyata faktor temperatur, kelembaban, suplai makanan, dan kondisi lingkungan selama pertumbuhan bakteri juga mempengaruhi aktivitas bakteri pelarut fosfat dalam melarutkan P tidak larut (Widawati dan Suliasih, 2006). Faktor-faktor tersebut ternyata mempengaruhi optimalisasi bakteri *Rhizobium* dalam melarutkan fosfat. Ini terjadi karena aktivitas bakteri *Rhizobium* tidak optimal dalam mensekresikan enzim asam organik (PMEase) yang sangat dibutuhkan dalam proses pelarutan fosfat. Dikemukakan oleh Mahdi *et al.* (2011), bahwa proses pelarutan fosfat dipengaruhi oleh adanya produksi asam organik yang mempunyai berat molekul rendah dan disertai pengasaman pada media. Beberapa isolat yang diuji juga menunjukkan adanya aktivitas fosfomonoesterase pada kultur murni.

Hasil analisa IAA secara kualitatif pada bakteri BPF dan BPN, semua menunjukkan warna merah atau merah jambu pada media. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut berpotensi untuk memproduksi hormon IAA. Analisa kuantitatif produksi IAA oleh bakteri pelarut fosfat (*Pseudomonas*) dan bakteri penambat nitrogen (*Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*) dapat dilihat pada grafik Gambar 5,6,7,8. Uji kualitatif dengan reagen Salkowski terdeteksi hormon IAA yang dihasilkan oleh isolat-isolat tersebut di atas. Hasil uji kuantitatif kultur murni menunjukkan bahwa waktu pencapaian nilai optimum konsentrasi hormone IAA masing-masing bakteri berbeda dan fluktuatif. Perbandingan antar isolat yang dianalisa, pencapaian konsentrasi hormon IAA tertinggi di produksi oleh bakteri *Pseudomonas* (4,0178 ppm). Bakteri ini diisolasi dari tanah sampel kode 2007 P5 pada analisan 72 jam (3 hari). Tertinggi berikutnya di produksi oleh bakteri *Rhizobium* (3,4946

ppm), bakteri *Azotobacter* (1,43920 ppm), dan *Azospirillum* (1,0214 ppm) yang diisolasi dari tanah sampel kode 1999P1 (48 jam / 2hari), kode 2007P (72 jam / 3 hari), dan kode 2007P3 (72 jam / 3 hari). Nilai konsentrasi optimum IAA oleh masing-masing bakteri tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan hasil dari penelitian Mustika (2009) yang mengisolasi bakteri endofit penghasil IAA pada akar tanaman padi, yaitu sebesar 1,090 ppm setelah bakteri diinkubasi selama 6 hari. Hasil tersebut ternyata lebih rendah jika dibandingkan dengan hasil penelitian – penelitian: Widawati *et al* (2015) dengan konsentrasi IAA sebesar 6,0842 ppm (*Bacillus cereus*); 6,1444 ppm (*Azotobacter*); 6,2132 ppm (*Azospirillum*); Silitonga *et al* (2013) dengan konsentrasi IAA sebesar 24,1 ppm, 32,75 ppm, dan 33,3 ppm (BPF) pada hari ke 2, ke 4 dan ke 6; Lestari *et al.*, (2007) dengan konsentrasi IAA sebesar 40,42 ppm (strain *Azospirillum* Az44) pada hari ke 7; dan Ahmad (2004) dengan konsentrasi IAA sebesar 32,3 ppm setelah diinkubasi selama 5 dari bakterii tanah genus *Pseudomonas*. Semua konsentrasi IAA tersebut lebih rendah jika dibandingkan hasil penelitian Gunarto (1996) dengan konsentrasi IAA sebesar 322,28 ppm yang diproduksi oleh strain V.S2.2 pada hari ke 4.

Biosintesis hormon IAA oleh bakteri atau mikroba lain juga dapat ditingkatkan dengan menambahkan L-triptopan eksogenus sebagai prekursor (Arkhipchenko, 2004). Terbukti pada analisis dalam penelitian bakteri *Rhizobium* memproduksi hormon IAA lebih tinggi (3,4946 ppm) dari bakteri *Azospirillum* dan *Azotobacter* dan hasil inipun didukung oleh hasil penelitian dari Gusnaniar, yaitu bahwa bakteri tanah yang memproduksi hormon IAA tertinggi adalah *Rhizobium* sp. yaitu sebesar 51,08 µg/mL (Gusnaniar, 2007). Hasil penelitian ini dan penelitian Gusnaniar membuktikan, bahwa L-triptophan harus diakui sebagai prekursor fisiologis biosintesis auksin baik pada tanaman maupun mikroorganisme dan juga merupakan prukursor fisiologis yang efisien dalam proses biosintesis

mikrobal auksin karena prekursor ini mengandung sumber berupa senyawa aktif yang memacu pertumbuhan mikrobiota rhizosfer dan endofit (Gusnaniar, 2007). Ketersediaan prekursor yang cocok merupakan salah satu faktor primer sekresi mikrobal dari metabolit sekunder, sehingga penambahan triptophan dapat meningkatkan produksi IAA karena diketahui triptophan merupakan prekursor bagi jalur IAA (Akhmad *et al.*, 2004).

KESIMPULAN

Hasil isolasi didapatkan 11 isolat efektif dari 11 titik sampling rizosfer perkebunan karet asal lampung yang terdiri dari 4 kelompok bakteri PGPR yaitu *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, dan *Pseudomonas*. Isolat tersebut berpotensi sebagai agen pupuk organik hayati (POH). Hasil analisis menunjukkan bahwa bakteri tersebut memiliki aktivitas Efisiensi Pelarutan fosfat, P terlarut, PMEase asam-basa, dan produksi hormone IAA, sehingga penelitian selanjutnya memungkinkan untuk dikembangkan sebagai POH yang mampu mereklamasi areal perkebunan yang terdegradasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada proyek PKPP LIPI tahun 2012 atas dukungan pembiayaan dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad FI and MS Khan. 2004. Indole Acetic Acid Production by the Indigenous Isolates of *Azotobacter* and *Pseudomonas fluorescens* in the Presence and Absence of Triptofan. *Turkist Journal of Biologi*. 29, 29-34.
- Anderson JPE. 1982. *Method Of Soil Analysis*, 841-845 Wisconsin. Madosen.
- Alexander M. 1977. *Introduction to Soil Microbiology*, 467. 2nd (Eds). John Wiley and Sons. New York
- Allen SE. 1974. *Chemical Analysis of Ecological Materials*, 81 – 159. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Alvaro P, R Rivas, IS Regina, PF Mateos, EM Molina, CR Barrueco and E Velázquez, 2004. *Pseudomonas lutea* sp. nov., a Novel Phosphate-Solubilizing Bacterium Isolated from the Rhizosphere of Grasses. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 54, 847-850.
- Arkhipchenko A, AI Shaposhnikov and LV Kravchenko 2006. Tryptophan Concentration Of Animal Wastes and Organic Fertilizer. *Applied Soil Ecology* 34(1), 62-64.
- Aslamsyah S. 2002. Peranan Hormon Tumbuh dalam Memacu Pertumbuhan Alga. http://tumoutou.net/702_05123/sitiaslamsyah.htm (Diunduh 20 Oktober 2014)
- Baldani VLD and J Dobereiner. 1980. Host-Plant Specificity in the Infection of Cereals with *Azospirillum spp.* *Soil Biology Biochemistry* 12, 433-439.
- Caceres EAR. 1982. Improved Medium for Isolation of *Azospirillum spp.* *Applied and Environmental Microbiology* 44, 990-991.
- Fankem H, D Nwaga, A Deubel, L Dieng, W Merbach and FX Etoa. 2006. Occurrence and Functioning of Phosphate Solubilizing Microorganisms from Oil Palm Tree (*Elaeis guineensis*) Rhizosphere in Cameroon. *African Journal of Biotechnology* 5(24), 2450 – 2460
- Gaur AC. 1981. Phospho-microorganism and variants transformation In Compost Technology, Project Field Document No. 13 FAO. 106-111.
- Gravel V, H Antoun and RJ Tweddell. 2007. Growth Stimulation and Fruit Yield Improvement of Greenhouse Tomato Plants by Inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil Biology Biochemistry* 39, 1968-1977.
- Gusnaniar. 2007. Produksi IAA oleh *Rhizobium spp.*, *Pseudomonas spp.*, dan *Azobacter sp* dalam medium sintetik dan serum lateks *Hevea brasiliensis* Muel.Arg. dengan suplementasi triptofan. Fakultas Biologi, Universitas Gajah Mada, Yogya. [skripsi S1].
- Kucey RMN, HH Tanzen and ME Leggett. 1983. Microbially Mediated Increases In Plant Available Phosphorus. *Advance Agronomy Journal* 42, 199-228.
- Kustiyaningsih. 2003. Pengaruh Sumber Karbon terhadap Aktivitas Bakteri Pelarut Fosfat dari Isolat Tanah Bukit Bangkirai, Kalimantan Timur. Insitut Pertanian Bogor. [skripsi S1].
- Lestari P, DN Susilowati, dan EL Riyanti. 2011. Pengaruh Hormon Asam Indol Asetat yang Dihasilkan *Azospirillum sp.* Terhadap Perkembangan Akar Padi. *Jurnal AgroBiogen* 3(2), 66-72.
- Nguyen C, W Yan, FL Tacon and F Lapeyrie. 1992. Genetic Viability Of Phosphate Solubilizing Activity by Monocaryotic and Dicarotyotic Mycelia of The Ectomycorrhizal Fungus *Laccaria bicolor* (Maire) PD Orton. *Plant Soil* 143, 193-199.
- Obaton, M. 1977. Effectiveness, saprophytic and competitive ability three properties of *Rhizobium* essential for increasing the yield of inoculated legumes. 127-132.
- Ponmurugan P and C Gopi. 2006. Distribution Pattern and Screening of Phosphate Solubilizing Bacteria Isolated from Different Food and Forage Crops. *Journal of Agronomy*. Asian Network for Scientific Information 5 (4), 600-604.
- Rao S. 1994. *Mikroorganisme Tanah Dan Pertumbuhan Tanaman*. 353. Edisi ke 2. UI Press, Jakarta.
- Salisbury FB and CW Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan Jilid 3*. 114. Bandung: ITB press.
- Savin MC, H Taylor, JH Görres and JA Amador. 2000. Seasonal Variation In Acid Phosphatase Activity As A Function Of Landscape Position And Nutrient Inputs. http://www.wrc.uri.edu/pubs/reports/1999/Ahmaddor_1999.pdf. [Diunduh Oktober 2014]
- Seshadri SS Ignacimuthu and C Lakshminarsimhan. 2002. Variations in heterotrophic and phosphatesolubilizing bacteria from Chennai, southeast coast of India. *Indian Journal of Marine Sciences* 31,69-72.

- Siregar MW, 2009.** Isolasi dan uji kemampuan bakteri endofit penghasil hormon IAA (Indole Acetic Acid) dari akar tanaman padi (*Oryza sativa* L.). Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara Medan.[skripsi S1].
- Soepardi G.1980.** *Sifat dan Ciri Tanah*. Departemen Ilmu-ilmu Tanah, Faperta IPB, Bogor.
- Sudiana IM. 2002.** Phosphatase Activity of *Bacillus* sp. Isolated from Forest Soil of Gunung Halimun National Park. *Berita Biologi* **6(1)**, 49 - 55.
- Tabatabai MA. 1994.** Soil enzymes. In: *Method of soil analysis, Part 2, Microbial and Biochemical properties. Book series no. 5. Soil Science Society of America Journal*. RW Weaver, S Angle, P Bottomley, D Bezdicek, S Smith, MA Tabatabai, A Wollum (eds), 775-833. Madison.
- TatiekH. 1991.** Bakteri pelarut fosfat asal beberapa jenis tanah dan efeknya terhadap pertumbuhan dan hasil jagung (*Zea mays* L.). Universitas Padjadjaran, Bandung. [Disertasi].
- Waters JK, BL Hughes, LC Purcell, KO Gerhardt, TP Mawhinney and DW Emerich. 1988.** Alanine, not ammonia, is excreted from N₂-fixing soybean nodule bacteroids. *Proceedings of the National Academy of sciences USA* 1998, **95(20)**, 12038-12042.
- Widawati S dan Suliasih. 2006.** Populasi Bakteri Pelarut P (BPF) di Cikini, Gunung Botol dan Ciptarasa serta Kemampuannya dalam melarutkan P Terikat di Media Pikovskaya Padat. *Jurnal Biodiversitas* **7(2)**, 109 - 113.
- Widawati S dan A Muharam. 2012.** Uji Laboratorium *Azospirillum* sp. yang Diisolasi dari Beberapa Ekosistem. *Journal Hortikultura* **22 (3)**, 258-267.
- Widawati S, Suliasih, dan Saefudin. 2015.** Isolasi dan uji efektivitas Plant Growth Promoting Rhizobacteria di lahan marginal pada pertumbuhan tanaman kedelai (*Glycine max* L. Merr.) var. Wilis. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*. Jakarta. Volume 1(1), 59-65.
- Vincent. 1982.** *Nitrogen Fixation in Legume*, 285. Academic Press, London.